



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **08271515 A**(43) Date of publication of application: **18.10.96**

(51) Int. Cl.

G01N 33/68
G01N 21/76
G01N 21/78

(21) Application number: **07070234**(22) Date of filing: **28.03.95**(71) Applicant: **MATSUSHITA ELECTRIC WORKS LTD**

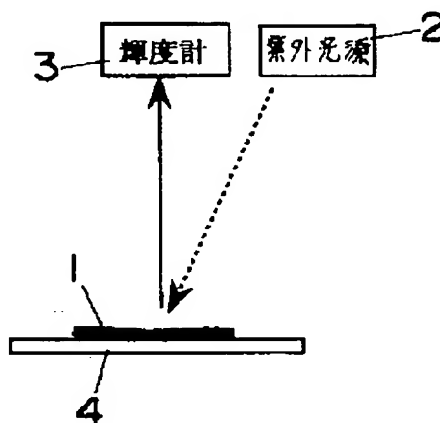
(72) Inventor: **SATO YASUHIRO**
HATA KAYO
IMAI TAKEYUKI

**(54) METHOD AND APPARATUS FOR MEASURING
 EXTENT OF DAMAGE ON KERATIN**

(57) Abstract:

PURPOSE: To evaluate variation in the structure of protein principally comprising keratin quantitatively with high accuracy.

CONSTITUTION: An object principally comprising keratin, i.e., a hair 1, is subjected to fluorescent dyeing by DACM and applied to a slide glass 4. The hair 1 is then irradiated with ultraviolet rays emitted from an ultraviolet light source 2 and the intensity of fluorescence emitted therefrom is measured by means of a luminance meter 3 and represented numerically. The DACM reacts selectively on SH group and since the SH group increases as the damage increases, the fluorescent intensity also increases. In other words, a larger luminescence measured by the luminescence meter 3 represents a larger damage on the hair 1.



COPYRIGHT: (C)1996,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-271515

(43) 公開日 平成8年(1996)10月18日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N	33/68		G 0 1 N	33/68
	21/76			21/76
	21/78			21/78
				C

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平7-70234

(22) 出願日 平成7年(1995)3月28日

(71) 出願人 000005832

松下電工株式会社

大阪府門真市大字門真1048番地

(72) 発明者 佐藤 安広

大阪府門真市大字門真1048番地松下電工株式会社内

(72) 発明者 秦 香葉

大阪府門真市大字門真1048番地松下電工株式会社内

(72) 発明者 今井 健之

大阪府門真市大字門真1048番地松下電工株式会社内

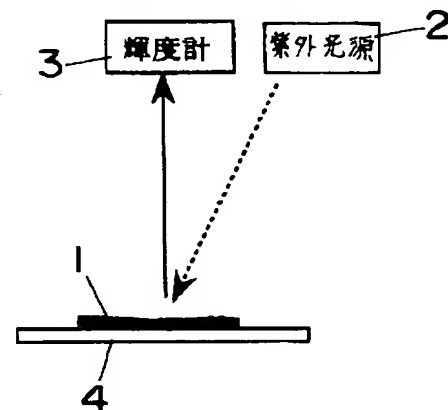
(74) 代理人 弁理士 石田 長七 (外2名)

(54) 【発明の名称】 ケラチンの損傷度の測定方法および測定装置

(57) 【要約】

【目的】 ケラチンを主体とするタンパク質の構造の変化の高精度かつ定量的な評価を可能にする。

【構成】 ケラチンを主体とする測定対象である毛髪1を、DACMで蛍光染色した後、スライドガラス4にはりつける。この毛髪1に紫外光源2から紫外線を照射して蛍光を生じさせ、蛍光の強さを輝度計3で測定し数値化する。DACMはSH基に選択的に反応し、損傷が多いほどSH基が多いから、損傷が多いほど蛍光の強さが大きくなる。すなわち、輝度計3で測定した輝度が大きいほど損傷が毛髪1の損傷が大きいことになる。



- 1 毛髪
- 2 紫外光源
- 3 輝度計
- 4 スライドガラス

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ケラチンが主体である測定対象をSH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色した後に、測定対象に紫外線を照射し、測定対象が発する蛍光の強さを検出器を用いて数値化することにより、検出器で求めた数値を測定対象中のSH基の含有率の指標とし、この指標を用いてケラチンの損傷度を評価することを特徴とするケラチンの損傷度の測定方法。

【請求項2】 SH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色したケラチンを主体とする測定対象に対して紫外線を照射する紫外光源と、紫外線照射により測定対象が発する蛍光の輝度を測定して数値化する輝度計とを備え、輝度計で求めた蛍光の輝度を測定対象中のSH基の含有率の指標とし、この指標を用いてケラチンの損傷度を評価することを特徴とするケラチンの損傷度の測定装置。

【請求項3】 SH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色したケラチンを主体とする測定対象に対して紫外線を照射する紫外光源と、紫外線照射により測定対象が発する蛍光を撮影する際の最適な露出値を測定して数値で示す露出計付きのカメラとを備え、カメラの露出計で求めた露出値を測定対象中のSH基の含有率の指標とし、この指標を用いてケラチンの損傷度を評価することを特徴とするケラチンの損傷度の測定装置。

【請求項4】 SH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色したケラチンを主体とする測定対象に対して紫外線を照射する紫外光源と、紫外線照射により測定対象が発する蛍光を撮像するカラービデオカメラと、カラービデオカメラの出力に基づいて蛍光染色剤による蛍光成分のスペクトル分布を抽出する画像解析装置と、画像解析装置により求めたスペクトル分布に基づいて測定対象中のケラチンの損傷度に相当する数値を算出する演算装置とを備えることを特徴とするケラチンの損傷度の測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ケラチンを主体とする体毛や爪などの損傷の程度をケラチン中の化学成分の分布に基づいて測定するケラチンの損傷度の測定方法および測定装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 一般に動物体の保護の役割を持つと考えられている体毛や爪は、ケラチンを主体として形成されている。この種の組織は現代人にとっては生物学的機能よりも美容的機能に関心が持たれており、損傷が少ないほど美容的価値が高いと考えられている。

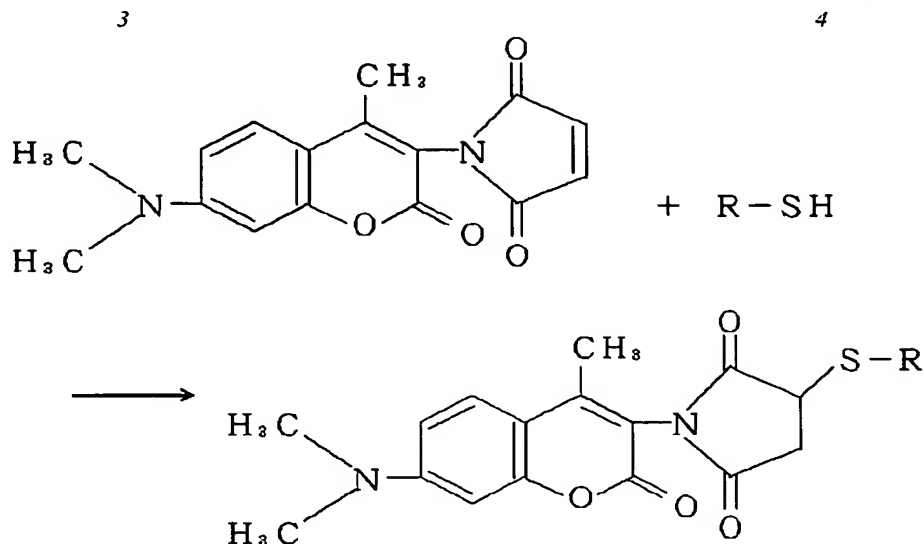
【0003】 たとえば、毛髪は、外側から透明で扁平な毛小皮（キューティクル）、黒色のメラニン顆粒を含む毛皮質、メラニン顆粒を含む毛髓の3層からできている。また、各層の80～90%はケラチンにより形成されている。毛髪の途中で毛小皮が剥がれ落ちて毛皮質が露出すれば、ささくれができて結節性裂毛になることがあり、乾燥や手入れの不備があると、毛先が縦方向に割れて枝毛になることがある。また、パーマメントは、毛髪を形成しているケラチンのS-S（シスチン）結合、水素結合などの結合を切断することにより毛髪を柔軟にした状態で毛髪に所望の形を与え、その後に結合を修復するという過程の化学的処理を施すから、毛髪が損傷しやすい。毛髪ではケラチンの損傷があると、弾力性や艶が失われ、美容的価値が損なわれるという問題が生じる。

【0004】 上述のような観点から体毛や爪などのケラチンを主体とする組織の保護ないし修復を目的とした商品が種々開発されており、この種の商品の開発者にとっては、組織に損傷が生じる条件や程度、組織の損傷を防止ないし軽減ないし修復できる条件や程度を知る必要がある。また商品の開発者ではなくとも、組織に損傷が生じる行為、損傷を防止できる行為、あるいは商品の使用による損傷の軽減ないし修復の効果などは関心事である。このように、ケラチンを主体とする体毛や爪などの組織の損傷の程度を測定することが要求されている。

【0005】 この種の組織の損傷を測定する方法としては、大きく別けて組織内の化学成分の分布に着目する方法と、物理形態に着目する方法とが知られている。組織の化学成分に着目する方法は、ケラチンの損傷時にはケラチンに多数含まれているS-S結合が切断されSH基が増加することを利用している。たとえば、パーマメントを行なうときには上述したようにS-S結合を一旦切断するからSH基が増加し、同様にシャンプーを行なった場合もS-S結合の切断によってSH基が増加することになる。そこで、SH基に選択的に結合して蛍光を発する染色剤により測定対象となる組織に蛍光染色を施し、染色後の測定対象に紫外線を照射することにより生じる蛍光を目視ないし写真撮影によって観察することが考えられている。この種の染色剤としては、N-(7-dimethyl-amino-4-methylcoumarinyl)maleimide（以下、DACMと略称する）が知られている。つまり、SH基を持つ物質をR-SHと表すとすれば、化1の反応式によって得られる物質が紫外線照射に対して強い蛍光を発するのである。

【0006】

【化1】



【0007】一方、物理形態に着目する方法は、正常時と損傷時との引張強度を測定して両者の差を比較する方法や、顕微鏡等を用いて外観の写真を撮影し、別に定めた損傷の程度の評価尺度（たとえば、5段階程度）と比較する方法がある。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】上述した蛍光染色による方法を採用すれば、タンパク質の構造の変化を可視化することができるから、組織の損傷をよく反映していると考えられるが、目視ないし写真撮影で評価しているものであるから、定性的な評価しか行っていないのが現状である。

【0009】一方、引張強度を測定する方法は定量的な評価が可能であるが、タンパク質の構造のわずかな変化を検出できるほどの分解能や精度を得ることは期待できないものである。また、外観を写真撮影する方法も最終的には目視によるものであるから、定性的評価しか行えないものである。

【0010】本発明は上記事由に鑑みて為されたものであり、その目的は、タンパク質の構造の変化を高分解能かつ定量的に評価することができるケラチンの損傷度の測定方法および測定装置を提供することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】請求項1の発明はケラチンの損傷度の測定方法であって、上記目的の達成のために、ケラチンが主体である測定対象をSH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色した後に、測定対象に紫外線を照射し、測定対象が発する蛍光の強さを検出器を用いて数値化することにより、検出器で求めた数値を測定対象中のSH基の含有率の指標とし、この指標を用いてケラチンの損傷度を評価することを特徴とする。

【0012】請求項2の発明は測定装置であって、SH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色した

ケラチンを主体とする測定対象に対して紫外線を照射する紫外光源と、紫外線照射により測定対象が発する蛍光の輝度を測定して数値化する輝度計とを備え、輝度計で求めた蛍光の輝度を測定対象中のSH基の含有率の指標とし、この指標を用いてケラチンの損傷度を評価することを特徴とする。

【0013】請求項3の発明は測定装置であって、SH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色したケラチンを主体とする測定対象に対して紫外線を照射する紫外光源と、紫外線照射により測定対象が発する蛍光を撮影する際の最適な露出値を測定して数値で示す露出計付きのカメラとを備え、カメラの露出計で求めた露出値を測定対象中のSH基の含有率の指標とし、この指標を用いてケラチンの損傷度を評価することを特徴とする。

【0014】請求項4の発明は測定装置であって、SH基に選択的に反応する蛍光染色剤を用いて蛍光染色したケラチンを主体とする測定対象に対して紫外線を照射する紫外光源と、紫外線照射により測定対象が発する蛍光を撮像するカラービデオカメラと、カラービデオカメラの出力に基づいて蛍光染色剤による蛍光成分のスペクトル分布を抽出する画像解析装置と、画像解析装置により求めたスペクトル分布に基づいて測定対象中のケラチンの損傷度に相当する数値を算出する演算装置とを備えることを特徴とする。

【0015】

【作用】本発明では、SH基に選択的に反応する蛍光染色剤によって測定対象に蛍光染色を施した後に、紫外線の照射によって生じる蛍光の強さを検出器で定量的に測定するのであり、ケラチンを主体とする測定対象では損傷の程度に応じてS-S（シスチン）結合が切断されてSH基が生じるから、検出器で求めた蛍光の強さはSH基の個数が多いほど強くなると考えられる。したがって、蛍光の強さを数値化し、この数値を用いてケラチン

の損傷度を評価すれば、定量的な評価が可能になるのである。

【0016】請求項2の発明の構成はもっとも簡単な構成の測定装置であり、請求項3の発明の構成は紫外光源とカメラがあれば実現できる。また、請求項4の発明の構成では、蛍光染色剤により蛍光染色して紫外線を照射したときに生じる波長成分のみを抽出することが可能であるから、外乱光の影響を受けにくく、ケラチンの損傷度を精度よく測定することができる。また、再現性も高くなる。

【0017】

【実施例】以下に説明する実施例では測定対象を毛髪としているが、他の体毛や爪であってもよく、ケラチンを主体とする測定対象であれば、本発明の技術思想は適用可能である。

(実施例1) 本実施例では、図1に示すように、紫外線を毛髪1に照射する紫外光源2と、紫外線の照射方向とは異なる方向から毛髪1の輝度を測定する輝度計3とを設けた例を示す。ここに、紫外光源2は400～410nmの一定強度の紫外線を放出する。毛髪1は後述する処理を施した後にスライドガラス4に張り付けられ、この状態で紫外線が照射される。

【0018】毛髪1の処理は、以下のように行なう。まず、毛髪1を5mm程度の長さに切断した後、TAS（トリスアミノメタンと酢酸塩と塩化ナトリウムの混合物）の水溶液（TASの0.85%水溶液はpH6.8の緩衝液として市販されている）により洗浄し、毛髪1の表面に付着しているごみ、シャンプー液、整髪剤、皮脂等の汚れを除去しておく。さらに、紫外線の照射前にDACMにより蛍光染色する。

【0019】DACMは、各種文献に記載された周知の方法で調整しておく。たとえば、DACMをアセトンに溶解させて濃度を0.1mM ($M=10^{-3}\text{mol/m}^3$)に調整し、使用直前にTASの0.85%水溶液で希釈し0.01mMに調整する。毛髪1の蛍光染色は、次の手順で行なう。まず、0.01mMに調整されたDACM液をサンプル管に入れ、そのサンプル管に上述したように洗浄した毛髪1を入れてよく振った後、5分間浸漬する。その後ただちに、調整したTAS水溶液を入れたサンプル管に毛髪1を移し、よく振った後、3分間浸漬することによって未反応のDACM液を除去する。次に、毛髪1をサンプル管から取り出してTAS水溶液を拭き取り、図1に示すように、スライドガラス4に張り付けるのである。

【0020】上記処理が施された毛髪1は、損傷の程度が大きいほど、SH基が多くなって反応するDACMの量が多くなるから、紫外線の照射に対して生じる蛍光は損傷の程度が大きいほど強くなると考えられる。そこで、輝度計3によって蛍光の強さを定量的に測定することで、SH基の量、すなわち損傷の程度を定量化するこ

とができるのである。

【0021】（実施例2）上記実施例では紫外光源2と輝度計3とを用いて構成した装置を示したが、本実施例では既製の生物顕微鏡を用いて毛髪1の損傷度を定量的に測定する例を示す。一般にこの種の生物顕微鏡では紫外線照射装置がオプションとして提供されているから、紫外線照射装置を実施例1の紫外光源に置き換えて用いることができる。また、生物顕微鏡には顕微鏡像を撮影するためにフィルムに写真を写すカメラを取り付けることができるから、露出計付きのカメラを取り付けて露出時間を読み取る。つまり、生物顕微鏡にカメラを装着する際には絞りは設けられていないからFナンバは一定になる。したがって、カメラに内蔵された露出計で表示されるシャッタの露出時間を読み取り、その逆数を求めれば受光光量に応じた露出値に比例する値が得られる。この値は受光光量に比例するから、実施例1における輝度計での測定値と同様に扱うことができる。つまり、実施例1における輝度計に代えて本実施例では露出計付きのカメラを用いるのである。

20 【0022】上述のようにして求めた露出時間の逆数を損傷度の指標として用い、健康な毛髪について求めた損傷度を1とするように正規化し（つまり、求めた損傷度を健康な毛髪の損傷度で除算する）、健康な毛髪と、ドライヤーで乾かした毛髪と、ブリーチを施した毛髪と、パーマメントをあてた毛髪とを比較したところ、図2に示すような結果が得られた。このように、本実施例の装置によって、毛髪の損傷度を定量的に評価することが可能になる。

30 【0023】（実施例3）本実施例は、図3に示すように、実施例2と同様に生物顕微鏡5を用い、紫外線照射装置6を取り付けるとともに、カラービデオカメラ7により顕微鏡像を撮像するようにした例を示す。すなわち、実施例2のスチルカメラに代えてカラービデオカメラ7を用いている。ここで、カラービデオカメラ7は動画を撮像するものではなく、いわゆる電子スチルカメラのように静止画を撮像するものでもよい。ここでは、CCD撮像素子を3個備えたカラービデオカメラ7を用いるものとする。この種のカラービデオカメラ7では、たとえば38万画素のCCD素子を備え、水平解像度が750本、垂直解像度が400本程度のものを容易に入手することができる。

40 【0024】カラービデオカメラ7で撮像された画像は、カメラコントロールユニット8を通してモニタ用のディスプレイ装置9に表示されるとともに、R、G、Bの各色の画像信号が抽出されて画像解析装置10に入力される。画像解析装置10では、R、G、Bの各色の画像信号に基づいて、蛍光染色剤によって毛髪を蛍光染色した場合に生じる蛍光成分の波長のみについて受光強度を抽出する。ここで、蛍光成分は一般には単波長ではなく複数種類の波長があるから、蛍光成分のスペクトル分

7

布を知ることができるのであって、このようなスペクトル分布をモニタ用のディスプレイ装置 11 に表示する。また、画像解析装置 10 で求めた蛍光成分のスペクトル分布を、パーソナルコンピュータよりなる演算装置 12 に入力し、受光強度の分布および受光強度などから、毛髪の損傷度を所定の演算によって求め（たとえば、蛍光成分の受光強度の積算値を求める）、損傷度に応じた数値を演算装置 12 から出力する。

【0025】本実施例の装置を用いれば、蛍光染色剤により生じる蛍光成分のみを抽出するから外乱光の影響を受けにくく、より高い精度で毛髪の損傷度を評価することができる。本実施例では、カラービデオカメラ 7 で撮像した画像を小領域に分割し、各小領域ごとのスペクトル分布を解析して損傷度を求めるようにすれば、毛髪の各部分ごとの損傷度を数値化して定量的に求めることも可能である。すなわち、どのような処置を毛髪に施すと、どの箇所がどの程度損傷するかを知ることにも可能である。また、毛髪以外にもケラチンを主体とする組織であれば爪などであっても同様に評価することができる。

【0026】

【発明の効果】本発明では、SH基に選択的に反応する蛍光染色剤によって測定対象に蛍光染色を施した後に、紫外線の照射によって生じる蛍光の強さを検出器で定量的に測定するので、蛍光の強さを数値化し、この数値を用いてケラチンの損傷度を評価することにより、ケラチンの損傷度を定量的に評価することができ、結果的にケ

8

ラチンの損傷度を客観的かつ精度よく測定することが可能になる。

【0027】とくに、請求項 4 の発明は、蛍光染色剤により蛍光染色して紫外線を照射したときに生じる波長成分のみを抽出することが可能であるから、外乱光の影響を受けにくく、ケラチンの損傷度を精度よく測定することができるという利点があり、再現性も高くなるという効果がある。

【図面の簡単な説明】

10 【図 1】実施例 1 の概略構成図である。

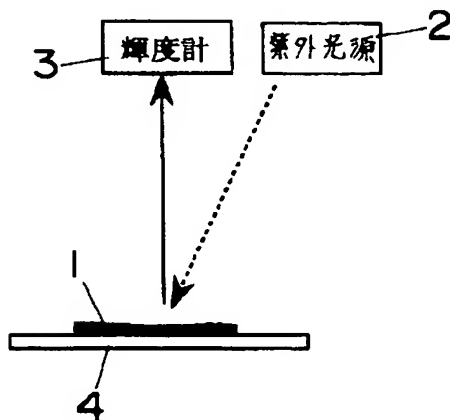
【図 2】実施例 2 により求めた結果を示す図である。

【図 3】実施例 3 の構成を示す概略構成図である。

【符号の説明】

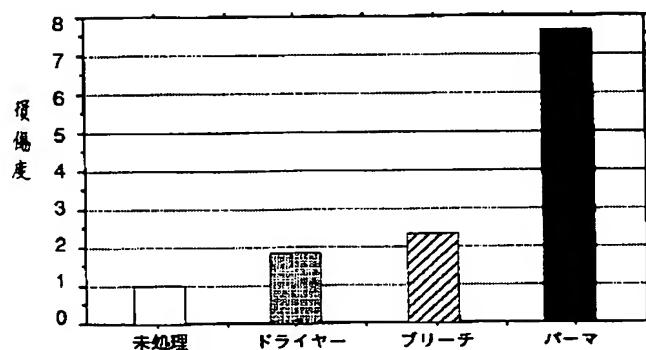
- 1 毛髪
- 2 紫外光源
- 3 輝度計
- 4 スライドガラス
- 5 生物顕微鏡
- 6 紫外線照射装置
- 20 7 カラービデオカメラ
- 8 カメラコントロールユニット
- 9 ディスプレイ装置
- 10 画像解析装置
- 11 ディスプレイ装置
- 12 演算装置

【図 1】

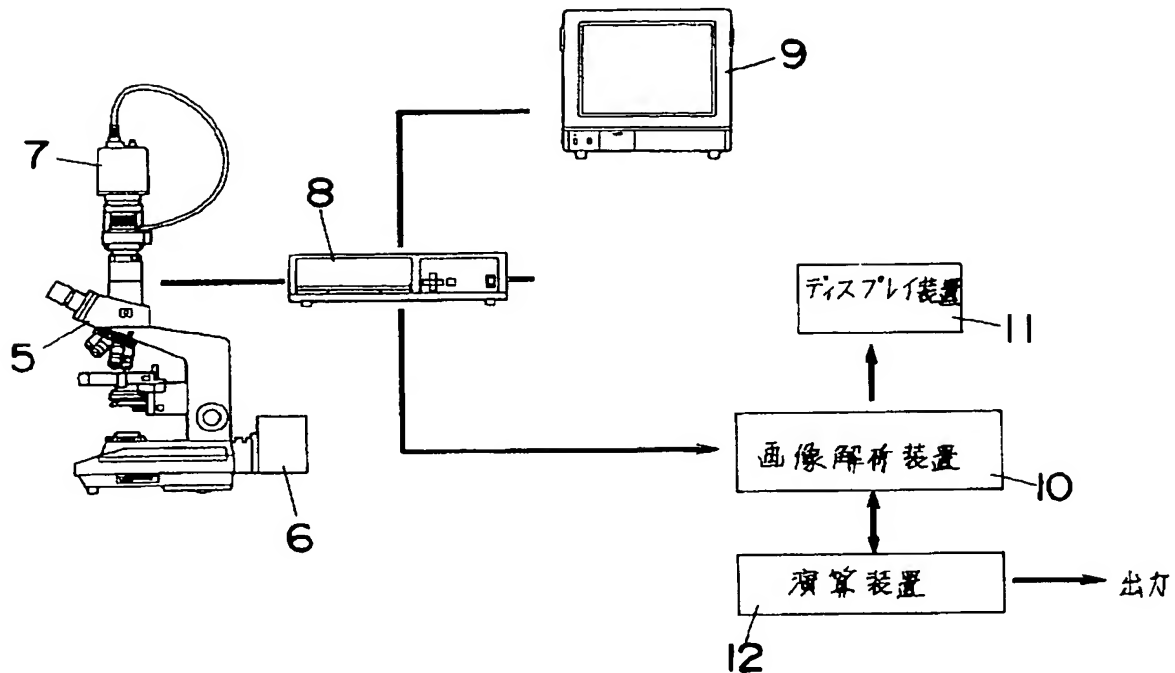


- 1 毛髪
- 2 紫外光源
- 3 輝度計
- 4 スライドガラス

【図 2】



【図3】



【手続補正書】

【提出日】平成7年5月1日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正内容】

【0019】DACMは、各種文献に記載された周知の方法で調整しておく。たとえば、DACMをアセトンに溶解させて濃度を0.1mM ($M=10^3 \text{ mol/m}^3$) に調整し、使用直前にTASの0.85%水溶液で希釈し

0.01mMに調整する。毛髪1の蛍光染色は、次の手順で行なう。まず、0.01mMに調節されたDACM液をサンプル管に入れ、そのサンプル管に上述したように洗浄した毛髪1を入れてよく振った後、5分間浸漬する。その後ただちに、調整したTAS水溶液を入れたサンプル管に毛髪1を移し、よく振った後、3分間浸漬することによって未反応のDACM液を除去する。次に、毛髪1をサンプル管から取り出してTAS水溶液を拭い取り、図1に示すように、スライドガラス4に張り付けるのである。